养殖水体中氨氮对大菱鲆的急性毒性效应研究

李之乡[1,2,3], 王伟继[2,3], 胡玉龙[2,3], 吕　丁[2,3], 吴欢欢[1,2,3], 栾　生[2,3], 孔　杰[1,2,3]

(1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室, 山东 青岛 266071; 3. 青岛海洋科学与技术国家实验室 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266071)

摘要: 为了评估大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)耐氨氮性状的遗传参数和为循环水养殖大菱鲆提供科学指导, 作者研究了养殖海水中氨氮对 4 月龄和 8 月龄大菱鲆的急性毒性效应, 同时对比了氨氮对白化和正常个体、雌性和雄性个体的急性毒性效应差别。结果表明: 非离子氨对 4 月龄大菱鲆的 24、48、72、96 h LC_{50} 分别为 2.19、1.94、1.80、1.72 mg/L, 对 8 月龄大菱鲆的 24、48、72、96 h LC_{50} 分别为 3.64、3.02、2.93、2.86 mg/L, 非离子氨对 4 月龄和 8 月龄大菱鲆的安全质量浓度分别为 0.17 和 0.29 mg/L; 氨氮对白化和正常大菱鲆以及雌性和雄性大菱鲆的急性毒性效应均没有显著性差异, 研究结果为进一步选育大菱鲆的耐氨氮品系提供科学依据。

关键词: 大菱鲆(*Scophthalmus maximus*); 苗种; 氨氮; 急性毒性; 半致死浓度; 白化

中图分类号: S931.3　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1000-3096(2017)10-0109-08

DOI: 10.11759//hykx2017041003

大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)原产于欧洲, 自然分布于北起冰岛、南至摩洛哥附近的海域, 属于菱鲆科(Scophthalmidae)、菱鲆属(*Scophthalmus*)[1], 具有生长快、肉质细嫩、营养丰富、经济价值高和市场优势明显等优点[2]。1992 年从英国引入中国, 并于 1999 年成功培育出第一批大菱鲆幼苗, 逐渐形成了“温室大棚+深井海水”的流水式工厂化养殖模式。然而该养殖模式因大面积抽取地下水资源, 使地下水水位大幅度下降, 已造成严重浪费[3-5]。

封闭式循环水养殖模式与“温室大棚+深井海水”的养殖模式相比, 具有节水、环保和高产等优势, 因此, 发展封闭式循环水养殖是实现渔业可持续发展的必然要求[6-7]。然而中国目前的循环水水处理工艺尚不成熟[8], 在循环水养殖系统中, 由于鱼的排泄物、残饵等有机物的长期积累, 极易导致水体中的氨氮含量过高。氨氮是水产养殖中制约鱼类生长的主要环境因子之一, 高浓度的氨氮能够抑制鱼类生长和存活, 对鱼的生理指标和组织器官起到负面作用, 同时能够诱发多种疾病, 对鱼体造成伤害[9]。因而研究在循环水养殖条件下氨氮对大菱鲆的毒性效应, 选育大菱鲆耐氨氮品系非常重要。

在实际生产中, 大菱鲆一般 3~4 月龄进行苗种培育, 14~18 月龄达到上市规格[10]。此外, 大菱鲆在 9~33 月龄雌性个体体质量普遍大于雄性个体, 并且随着养殖时间的延长, 这种差异逐渐增大[11]。因此, 为保证实验所用的雌雄大菱鲆个体规格一致, 并在解剖时能够准确辨认性别, 本研究选择 4 月龄(苗种期)和 8 月龄(养殖中期)大菱鲆为实验材料。采用半致死浓度(Median lethal concentration, LC_{50})作为衡量水体中氨氮对大菱鲆急性毒性作用大小的参数[12], 并以存活时间为依据, 比较白化和正常以及雌性和雄性大菱鲆的耐氨氮能力, 最后对大菱鲆的体长、体质量、日龄以及氨氮耐受能力的相关性进行分析。以期为大菱鲆的循环水养殖技术提供参考, 为下一步评估大菱鲆耐氨氮性状遗传参数, 选育大菱鲆耐氨氮品系提供理论依据。

收稿日期: 2017-04-10; 修回日期: 2017-04-28

基金项目: 泰山学者种业计划专家项目(ZR2014CQ001); 山东省重点研发计划项目(2016ZDJS06A07); 国家高技术研究发展计划(863)(2012AA10A408-7)

[Foundation: Taishan Scholar Program for Seed Industry, No. ZR2014CQ001; Key Research and Development Project of Shandong Province, No.2016ZDJS06A07; The National High Technology Research and Development Program of China, No.2012AA10A408-7]

作者简介: 李之乡(1991-), 男, 山东临沂人, 硕士研究生, 主要从事水产动物遗传育种工作, E-mail: lizhixiang26@163.com; 王伟继, 通信作者, E-mail: wangwj@ysfri.ac.cn

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验在山东海阳黄海水产有限公司大菱鲆育苗车间进行。实验鱼采用了 180 尾体质量为(115.92±20.39)g 的 8 月龄大菱鲆和 360 尾体质量为(6.53±1.14)g 的 4 月龄大菱鲆。实验在半径为 0.5 m、高 0.7 m 的圆形玻璃钢(Fiber Reinforced Plastics, FRP)容器中进行, 每个容器中加入 240 L 砂滤海水。实验所需氨氮浓度使用 NH_4Cl 分析纯(天津北辰方正试剂厂)配制, 总氨氮浓度依据 NH_4Cl 中 N 的含量计算求得。实验时称取所需要 NH_4Cl 的量, 在海水中充分溶解后搅拌均匀。

1.2 实验方法

正式实验前先进行预实验, 摸索氨氮对大菱鲆致死的大致浓度范围。

实验开始之前停食 3 d, 排空大菱鲆体内粪便, 最大限度地减少大菱鲆代谢对实验结果所造成的影响。根据预实验结果分别对 4 月龄大菱鲆和 8 月龄大菱鲆按等对数间距设置 5 个浓度组并设置对照(表 1), 每个浓度设 3 个重复。4 月龄大菱鲆每个重复 20 尾, 其中 10 尾白化鱼, 10 尾正常鱼。8 月龄大菱鲆每个重复 10 尾, 其中 2~3 尾白化鱼, 其余为正常鱼。而 4 月龄大菱鲆解剖时辨认性别比较困难, 故只解剖了 8 月龄大菱鲆, 记录雌雄数据。

表 1 氨氮对大菱鲆急性毒性实验浓度设置

Tab. 1 Ammonia nitrogen concentrations set for turbot acute toxicity experiments

发育时期	氨氮	组别					
		A	B	C	D	E	F
4 月龄	NH_3-N_m	0	1.30	1.56	1.87	2.24	2.70
	NH_3-N_t	0	28.14	33.76	40.51	48.62	58.34
8 月龄	NH_3-N_m	0	2.00	2.40	2.88	3.46	4.15
	NH_3-N_t	0	43.28	51.94	62.33	74.80	89.76

注: 表中 NH_3-N_m 表示非离子氨浓度, NH_3-N_t 表示总氨氮质量浓度, 单位: mg/L

实验采用半静水式生物测试法[13], 实验水温维持在 22.5℃±1℃, pH8.0~8.1, 盐度 30, 溶解氧维持在 5.5~7.0 mg/L。实验过程中每 24 h 更换 1 次相应 NH_4Cl 浓度的海水, 每天的换水量为 100%, 实验期间不投饵。实验开始第 1 天每 1 h 观察 1 次, 后期每 2 h 观察 1 次鱼的死亡情况, 及时将死亡鱼捞出, 解剖辨别雌雄并记录死亡时间、体长、体质量以及是否白化等数据。

最后根据 4 月龄大菱鲆的急性毒性实验所计算出的 72 h 半致死浓度对 954 尾 4 月龄大菱鲆幼鱼进行氨氮胁迫实验。实验在半径为 1.2 m、高 0.6 m 的玻璃钢容器中进行, 并维持与上述相同的实验条件, 直至所有个体全部死亡。

1.3 数据的统计分析

1.3.1 半致死浓度的计算

半致死浓度的计算采用改进寇氏法[12]:

$$LD_{50}=\lg^{-1}\left[X_m-i\left(\sum p-\frac{3-P_m-P_n}{4}\right)\right] \quad (1)$$

$$S_{x50}=i\sqrt{\frac{\sum pq}{n}} \quad (2)$$

LD_{50} 的 95%可信限=$\lg^{-1}(\lg LD_{50}\pm 1.96\times S_{x50})$ (3)

上式中: i 为组距, 即相邻两组浓度对数之差; P 为各浓度组死亡率; X_m 为最大浓度对数; P_m 为最高死亡率; P_n 为最低死亡率; q 为各浓度组存活率, 即 1–p; n 为各组动物数量; S_{x50} 为 $\lg LD_{50}$ 的标准误。

安全浓度(C_S)计算公式: C_S=96h $LC_{50}\times 0.1$

1.3.2 非离子氨浓度的计算

总氨氮与非离子氨的浓度按如下公式换算[14]:

$$c_{(NH_3\text{-}N_m)}=14\times 10^{-5}c_{(NH_3\text{-}N_t)}\cdot f \quad (4)$$

$$f=100/(10^{pK_a^{S\cdot T}-pH}+1) \quad (5)$$

$$pK_a^{S\cdot T}=9.245+0.002\,949\,S+0.032\,4(298-T) \quad (6)$$

上式中 $c_{(NH_3\text{-}N_m)}$ 为非离子氨的浓度(mg/L); $c_{(NH_3\text{-}N_t)}$ 为总氨氮浓度(μmol/L); T (T=273+t)为海水热力学温度, t 为摄氏温度; f 为海水中非离子氨的摩尔百分比; S 为海水盐度; $pK_a^{S\cdot T}$ 表示温度为 T, 盐度为 S 时海水中的 NH_4^+ 的解离平衡常数 $K_a^{S\cdot T}$ 的负对数。

1.3.3 数据分析

将在相同实验条件下大菱鲆的存活时间作为耐氨氮能力的指标。分别将 D、E、F 组中的 3 个重复数据合并到一起, 白化用 0 表示, 正常用 1 表示。雌

性用 0 表示, 雄性用 1 表示。使用 SPSS19.0 中的 Kaplan-Meier 生存分析模型分别对合并后的 D、E、F 组数据进行分析, 分别比较白化和正常以及雌性和雄性大菱鲆在相同氨氮条件下的中位生存时间是否具有差异性(P<0.01, 差异极显著, P<0.05, 差异显著)。

使用 SPSS19.0 对测得的 4 月龄大菱鲆体长、体质量、日龄和存活时间进行 Pearson 相关性分析。

2 实验结果与分析

2.1 氨氮对 4 月龄和 8 月龄大菱鲆的急性毒性作用

由氨氮对大菱鲆的急性毒性实验结果可知(表 2), 在相同的时间内, 氨氮浓度越高, 大菱鲆死亡数量越多; 在相同的 NH_4Cl 浓度下, 随着氨氮胁迫时间的延长, 大菱鲆死亡数量逐渐增多。各重复组之间的死亡情况基本一致, 采用各组的平均死亡率来计算半致死浓度。

通过计算得到 4 月龄大菱鲆和 8 月龄大菱鲆的半致死浓度如表 3 所示。随着氨氮浓度的增加, 其毒性逐渐增强。非离子氨对 4 月龄大菱鲆的 24、48、72、96 h LC_{50} 分别为 2.19、1.94、1.80、1.72 mg/L。非离子氨对 8 月龄大菱鲆的 24、48、72、96 h LC_{50} 分别为 3.64、3.02、2.93、2.86 mg/L。非离子氨对 4 月龄和 8 月龄大菱鲆的安全浓度分别为 0.17 和 0.29 mg/L, 8 月龄大菱鲆非离子氨的安全浓度是 4 月龄大菱鲆的 1.71 倍。

表 2 氨氮对 4 月龄和 8 月龄大菱鲆的急性毒性实验结果
Tab. 2 Acute toxicity effects of ammonia nitrogen on 4-month-old and 8-month-old turbot

发育时期	组别	死亡数(尾)														
		24 h			48 h			72 h			96 h			7 d		
4 月龄	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	C	0	0	0	0	1	1	1	1	6	3	2	7	8	2	10
	D	3	0	0	6	2	9	13	7	14	18	11	16	19	16	17
	E	13	13	10	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	F	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
8 月龄	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	C	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0	6	6	2
	D	1	0	1	3	1	3	5	2	3	7	3	4	10	10	10
	E	3	5	4	9	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	F	9	7	7	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

表 3 氨氮对大菱鲆的半致死浓度(95%可信限)和安全浓度(mg/L)
Tab. 3 Ammonia nitrogen levels of LC_{50} (95% confidence limit) and the safety concentrations for turbot (mg/L)

时间(h)	4 月龄		8 月龄	
	NH_3-N_m	NH_3-N_t	NH_3-N_m	NH_3-N_t
24	2.19(2.09~2.28)	47.31(45.32~49.38)	3.64(3.36~3.95)	78.88(72.75~85.53)
48	1.94(1.86~2.01)	41.89(40.30~43.55)	3.02(2.86~3.20)	65.44(61.89~69.19)
72	1.80(1.72~1.89)	39.06(37.23~40.99)	2.93(2.76~3.12)	63.48(59.76~67.42)
96	1.72(1.65~1.81)	37.32(35.61~39.12)	2.86(2.69~3.05)	61.95(58.17~65.98)
安全浓度	0.17	3.73	0.29	6.20

注: 表中 NH_3-N_m 为非离子氨; NH_3-N_t 为总氨氮

2.2 氨氮对正常和白化大菱鲆急性毒性作用的比较

分别选取死亡数量较多的 D、E、F 组 4 月龄和 8 月龄大菱鲆的死亡数据, 比较白化鱼和正常鱼对氨氮的耐受能力。

图 1 和图 2 分别列出了所用实验组 4 月龄、8 月龄白化和正常大菱鲆存活时间的中位数、第一四分

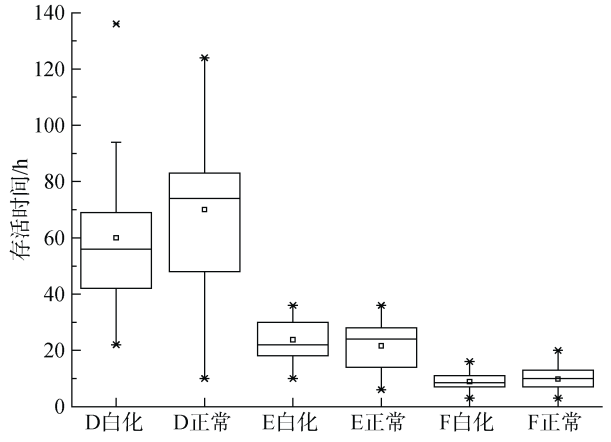


图 1　四月龄白化和正常大菱鲆存活时间的箱线图

Fig. 1　Box plots of survival times of 4-month-old albino and normal turbot

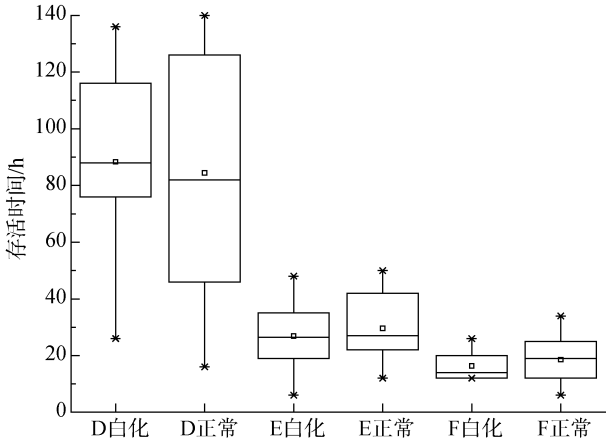


图 2　八月龄白化和正常大菱鲆存活时间的箱线图

Fig. 2　Box plots of survival times of 8-month-old albino and normal turbot

位数、第三四分位数、最小值、最大值和异常值。由图 1、图 2 可见，随着氨氮浓度的升高，其存活时间越短。其中在第 D 实验组中白化与正常大菱鲆的存活时间箱线图形态稍有不同, E、F 组中基本一致。表 4 分别列出了 4 月龄、8 月龄大菱鲆各分析组中白化和正常鱼的数量以及平均体质量。统计分析表明，在相同的氨氮浓度条件下，4 月龄、8 月龄的白化与正常大菱鲆，其存活时间均没有显著性差异，即白化大菱鲆和正常大菱鲆对氨氮的耐受能力没有显著性差异。

2.3　氨氮对雌雄大菱鲆急性毒性作用的比较

选取 8 月龄大菱鲆的 D、E、F 组数据，比较雌性和雄性大菱鲆对氨氮耐受能力的差异性。

从图 3 可见，在第 D、F 组实验中雄性大菱鲆耐氨氮存活时间的下四分位数要明显比雌性大菱鲆的低，而 E 两组中的盒形图基本一致。表 5 分别列出了 8 月龄大菱鲆各分析组中雌性和雄性鱼的数量以及平均体质量，统计分析结果表明，8 月龄雌性和雄性大菱鲆之间对氨氮的耐受能力并没有显著性差异。

2.4　体质量、体长、日龄与大菱鲆耐氨氮的相关性比较

图 4 给出了 954 尾大菱鲆在 39.06 mg/L 的氨氮质量浓度下其存活时间与体质量的关系。从图 4 中可以看出，大菱鲆的存活时间在 60~128 h 之间比较集中，体质量与存活时间没有相关性。对大菱鲆的体质量、体长、日龄和存活时间进行相关性分析，其结果如表 6 所示。由分析结果可知，大菱鲆的体质量和体长、体质量和日龄、体长和日龄均呈极显著正相关。而大菱鲆在氨氮胁迫下的存活时间和体质量、存活时间和体长、存活时间和日龄均表现为不相关($|r|<0.3$)[15]。

表 4　不同浓度条件下 4 月龄、8 月龄大菱鲆白化和正常个体的数量及平均体质量

Tab. 4　Numbers and average body weights of albino and normal individuals in 4-month-old turbot and 8-month-old turbot under different concentrations

发育时期	组别	白化鱼数量($\bar{x}$±s/g)	正常鱼数量($\bar{x}$±s/g)
4 月龄	D	24(6.45±1.26)	28(6.16±1.05)
	E	30(6.69±1.14)	30(6.59±1.02)
	F	30(6.47±1.31)	30(6.63±0.95)
8 月龄	D	5(125.14±21.64)	24(111.12±17.79)
	E	9(121.78±17.73)	21(115.51±22.49)
	F	6(105.10±20.30)	24(116.18±19.31)

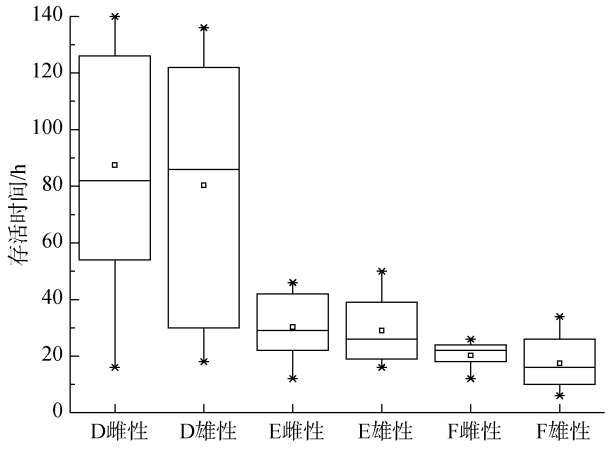


图 3　八月龄雌性和雄性大菱鲆存活时间的箱线图

Fig. 3　Box plots of survival times of 8-month-old female and male turbot

表 5　不同浓度条件下 8 月龄大菱鲆雌性和雄性个体的数量及平均体质量

Tab. 5　Numbers and average body weights of female and normal 4-month-old and 8-month-old turbot under different concentrations

组别	雌性鱼数量($\bar{x}$±s/g)	雄性鱼数量($\bar{x}$±s/g)
D	17(115.74±21.51)	12(110.41±14.95)
E	14(123.06±20.75)	16(112.54±20.71)
F	12(115.08±21.86)	18(113.22±18.63)

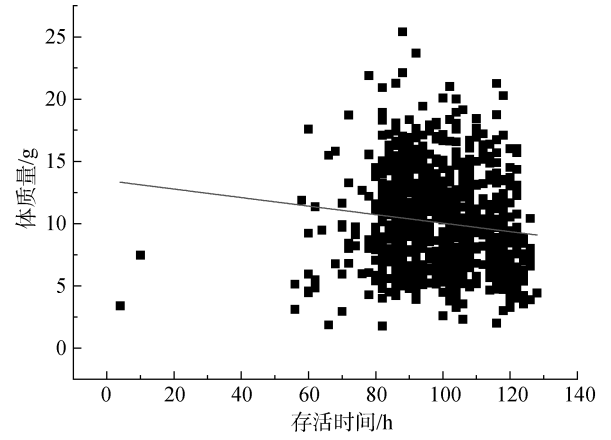


图 4　大菱鲆耐氨氮存活时间与体质量的关系

Fig. 4　Correlations of ammonia resistant survival time and body weight in turbot

3　讨论

3.1　氨氮的急性毒性效应评价

养殖水体中的氨氮主要是残饵、粪便等有机物在分解的过程中产生的。水体中的氨氮主要以离子氨(NH_4^+)和非离子氨(NH_3)两种形式存在，两者在水体中能够相互转化: $NH_4+H_2O \rightleftarrows NH_3+H_3O^+$[16]。而由于非离子氨($NH_3$-$N_m$)不带电荷，半径相对较小，容易穿过脂质生物膜的疏水性微孔进入鱼体内，对鱼鳃表皮细胞造成损伤，从而降低鱼的免疫能力[17]。非离子氨的毒性是离子氨的几百倍。在工厂化循环水的水处理环节中，对氨氮的处理是利用硝化细菌、亚硝化细菌、反硝化细菌等，将水体中的氨氮转化为亚硝酸盐，之后转化为硝酸盐，最后转化为氮气排出，这个过程称为去氨或者去氮[18]。硝化细菌和亚硝化细菌的最适温度为 23~30℃，但是在大菱鲆养殖过程中的温度基本上低于 23℃，尤其是北方冬天的养殖水温甚至低于 10℃。温度过低使硝化细菌和亚硝化细菌的生理代谢受到影响，从而大大降低对氨氮的处理能力。因此，大菱鲆的循环水养殖模式依然存在很大的困难，研究在工厂化循环水养殖过程中氨氮对大菱鲆的影响非常重要。

表 6　大菱鲆急性毒性实验存活时间、体重、体长和日龄的相关性分析

Tab. 6　Correlation analysis of survival times of turbot in acute toxicity tests with respect to body weight, body length, and days

性状	存活时间	体质量	体长
体质量	–0.127**		
体长	–0.159**	0.868**	
日龄	–0.176**	0.548**	0.487**

**. 相关性在 0.01 的水平上有显著性(双尾)

不同的水生生物对非离子氨的耐受能力有较大的差异，而同种水生生物的不同发育阶段对非离子氨的耐受能力同样差别比较明显。已有研究表明，罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*)[19]、黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*)[20]、鲤鱼 (*Cyprinus carpio*)[21]、史氏鲟(*Acipenser schrencki*)[22]、斜带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*)[23]等水产动物对非离子氨的耐受能力均有所差别，并且其规格越大，对氨氮的耐受能力越强。在本实验中得出 8 月龄大菱鲆的 24、48、72、96 h 等各时间段的半致死浓度均比 4 月龄大菱鲆的要高，说明 8 月龄大菱鲆比 4 月龄大菱鲆对氨氮的耐受能力更强。这与上述水产动物其规格越大，耐氨氮能力越强的研究结果相一致。而在本实验中对 954 尾大菱鲆的急性毒性实验结果得出，大菱鲆的耐氨氮性状与大菱鲆的体长、体质量等生长性状没有相关性。可能是因为采用的 954 尾 4 月龄大菱鲆规格差异相对较小，对氨氮的耐受能力没有表现出显著性差异。

曲克明等[24]在水温 16℃±1℃的条件下研究了非离子氨对大菱鲆(体长 2.0~2.4 cm)的 96 h LC_{50} 值为 1.14 mg/L, 其结果与本实验在 22.5℃±1℃条件下得出的非离子氨对大菱鲆(体长 4~7 cm)的 96 h LC_{50} 值(1.94 mg/L)有所差别。可能主要的原因是鱼的规格和实验水体温度不一样导致的。因为氨氮的毒性与养殖水体的 pH、温度以及溶解氧等密切相关。离子氨转化为非离子氨是一个吸热的过程, 养殖水体温度越高, 非离子氨所占的比例越大, 氨氮对水产动物的毒性越强[25]。

3.2 非离子氨的安全浓度评价

非离子氨对鱼类的影响有急性毒性效应和慢性毒性效应。而在实际生产中比较常见的是慢性毒性效应。在大菱鲆的长期养殖过程中, 海水中氨氮浓度过高, 会显著降低大菱鲆的生长速度、成活率以及饲料利用率等[26]。Foss 等[27]和 Ruyet 等[26]分别报道了当非离子氨质量浓度超过 0.17 和 0.21 mg/L 时, 会对大菱鲆幼鱼的生长产生负面影响。这与作者研究的非离子氨对 4 月龄大菱鲆的安全质量浓度(0.17 mg/L)基本一致。因此, 在大菱鲆的长期养殖过程中应该对非离子氨的浓度进行实时监测, 当非离子氨的质量浓度超过 0.17 mg/L 时应该采取紧急措施, 降低水体中的氨氮含量, 避免水体环境对鱼体造成伤害。

3.3 白化和正常以及雌性和雄性大菱鲆对氨氮的耐受性比较

白化病是大菱鲆海水养殖中的一种常见疾病, 有关大菱鲆白化病的机制目前尚不清楚[28]。白化鱼被消费者认为是劣质产品, 其市场价值远低于正常鱼[29]。然而在实际养殖中, 部分从业人员根据直观观察, 认为白化大菱鲆在生长速度和抗病方面均要优于同批次的正常大菱鲆[30]。已有研究表明, 白化和正常大菱鲆个体在生长速度和总体营养成分方面并没有显著性差异[30-31]。而关于白化和正常大菱鲆的抗性比较, 目前还没有研究。在本实验中对正常和白化大菱鲆以及雌性和雄性大菱鲆的耐氨氮能力进行了比较, 结果表明两者之间均没有差异显著性。

本研究首次对白化和正常大菱鲆个体以及雌性和雄性大菱鲆个体的耐氨氮性状进行了比较, 并且计算了在 22.5℃±1℃条件下氨氮对不同发育阶段大菱鲆个体的半致死浓度和安全质量浓度。研究结果为循环水养殖大菱鲆提供科学指导, 并且对大菱鲆耐氨氮品种的选育具有重要参考价值。

参考文献:

[1] 雷霁霖. 大菱鲆的引进和新型养殖产业的发展[J]. 中国渔业经济, 2003, 5: 16.
Li Jilin. Introducing into *Reinharditus hippoglossoicles* and development of new patter of aquaculture[J]. Chinese Fisheries Economics, 2003, 5: 16-16.

[2] 门强, 雷霁霖, 王印庚. 大菱鲆的生物学特性和苗种生产关键技术[J]. 海洋科学, 2004, 28(3): 1-4.
Men Qiang, Lei Jilin, Wang Yingeng. Biology and critical breeding techniques of turbot, *Scophthalmus maximus*[J]. Marine Science, 2004, 28(3): 1-4.

[3] 王波, 雷霁霖, 张榭令, 等. 工厂化养殖的大菱鲆生长特性[J]. 水产学报, 2003, 27(4): 358-363.
Wang Bo, Lei Jilin, Zhang Xieling, et al. Growth characteristics of intensively cultured *Scophthalmus maximus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2003, 27(4): 358-363.

[4] 雷霁霖, 门强, 王印庚, 等. 大菱鲆"温室大棚+深井海水"工厂化养殖模式[J]. 海洋水产研究, 2002, 23(4): 1-7.
Lei Jilin, Men Qiang, Wang Yingeng, et al. Review of "green house+deep well seawater" industrialized culture pattern of turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. Marine Fisheries Research, 2002, 23(4): 1-7

[5] 米娜莎, 王栋. 中国大菱鲆产业现状及发展趋势分析[J]. 海洋科学, 2011, 36(6): 96-99.
Mi Nasha, Wang Dong. Status of turbot industry and its development trend in China[J]. Marine Science, 2011, 36(6): 96-99.

[6] Martins C I M, Eding E H, Verdegem M C J, et al. New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: A perspective on environmental sustainability[J]. Aquacultural Engineering, 2010, 43(3): 83-93.

[7] Summerfelt S T, Wilton G, Roberts D, et al. Developments in recirculating systems for Arctic char culture in North America[J]. Aquacultural Engineering, 2004, 30(1-2): 31-71.

[8] 陈军, 徐皓, 倪琦, 等. 我国工厂化循环水养殖发展研究报告[J]. 渔业现代化, 2009, 36(4): 1-7.
Chen Jun, Xu Hao, Ni Qi, et al. The study report on the development of China industrial recirculating aquaculture[J]. Fishery Modernization, 2009, 36(4): 1-7.

[9] Foss A, Imsland A K, Roth B, et al. Effects of chronic and periodic exposure to ammonia on growth and blood physiology in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. Aquaculture, 2009, 296(s 1-2): 45-50.

[10] 雷霁霖. 大菱鲆养殖技术[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2003: 13-15.
Lei Jilin. Turbot farming techniques[M]. Shang Hai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 2003, 13-15.

[11] 王新安, 马爱军, 黄智慧, 等. 大菱鲆选育家系雌、雄群体的生长发育差异[J]. 水产学报, 2014, 38(4): 464-469.
Wang Xinan, Ma Aijun, Huang Zhihui, et al. Developmental differences between female and male groups in turbot (*Scophthalmus maximus*) breeding families[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(4): 464-469.

[12] 沈建忠. 动物毒理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 83-93.
Shen Jianzhong. Animal toxicology[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2002: 83-93.

[13] 周永欣, 章宗涉. 水生生物毒性试验方法[M]. 北京: 农业出版社, 1989: 31-33.
Zhou Yongxin, Zhang Zongshe. Toxicity tests with aquatic organisms[M]. Beijing: Agriculture Press, 1989: 31-33.

[14] GB 3097-1997. 中华人民共和国海水水质标准[S].
GB 3097-1997. Sea water quality standard[S].

[15] 杨艳萍. 统计学[M]. 郑州: 河南人民出版社, 2005: 287-293.
Yang Yanping. Statistics[M]. Zhengzhou: Henan People's Publishing House, 2005: 287-293.

[16] 邹玲媛, 承宪成. 非离子氨(UIA)水质评价指标及换算方法[J]. 水产科学, 2002, 21(2): 42-43.
Zou Lingyuan, Cheng Xiancheng. Water quality eveluation index and conversion method of UIA[J]. Fisheries Science, 2002, 21(2): 42-43.

[17] Armstrong D A, Colt J E. Interaction of ionized and unionized ammonia on short-term survival and growth of prawn larvae, *macrobrachium rosenbergii*[J]. Biological Bulletin, 1978, 154(1): 15-31.

[18] 殷蕊, 宫春光. 工厂化循环水养殖中若干问题的探讨[J]. 河北渔业, 2013, 7: 62-64.
Yin Rui, Gong Chunguang. Discussion on some issues of the circulating water aquaculture[J]. Hebei Fisheries, 2013, 7: 62-64.

[19] 陈佳毅, 孙龙生, 吴骏, 等. 氨氮和亚硝氮对不同发育阶段罗氏沼虾幼体的急性毒性研究[J]. 水产养殖, 2015, 36(10): 1-6.
Chen Jiayi, Sun Longsheng, Wu Jun, et al. Acute toxic effects of NH_3-N and NO_2-N on *Macrobrachium rosenbergii* Larva at different developmental stages[J]. Journal of Aquaculture, 2015, 36(10): 1-6.

[20] 李波. 氨氮和亚硝酸盐对黄颡鱼的毒性研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010: 7-19.
Li Bo. Effects of ammonia and nitrite toxicity on yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2010: 7-19.

[21] 郑永华, 胡祥文, 刘忠东, 等. 氨对鲤鱼苗的急性毒性[J]. 西南农业学报, 1998, 11(2): 80-85.
Zheng Yonghua, Hu Xiangwen, Liu Zhongdong, et al. An acute toxicity of ammonia on fry of carp[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 1998, 11(2): 80-85.

[22] 刘建魁, 刘立志, 赵文, 等. 非离子氨和氨氮对不同规格史氏鲟幼鱼的急性毒性及安全浓度评价[J]. 大连海洋大学学报, 2014, 29(2): 175-178.
Liu Jiankui, Liu Lizhi, Zhao Wen, et al. Acute toxicity and safe concentration of non-ionic ammonia and ammonia nitrogen to juvenile Amur sturgeon *Acipenser schrencki* with different sizes[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2014, 29(2): 175-178.

[23] 郑乐云. 氨氮和亚硝酸盐对斜带石斑鱼苗的急性毒性效应[J]. 海洋科学, 2012, 36(5): 81-86.
Zheng Leyun. Acute toxic effects of ammonia and nitrite on *Epinephelus coioides* fry[J]. Marine Science, 2012, 36(5): 81-86.

[24] 曲克明, 徐勇, 马绍赛, 等. 不同溶解氧条件下亚硝酸盐和非离子氨对大菱鲆的急性毒性效应[J]. 海洋水产研究, 2007, 28(4): 83-88.
Qu Keming, Xu Yong, Ma Shaosai, et al. Acute toxic effects of nitrite and non-ion ammonia on turbot (*Scophthalmus maximus*)at different DO levels[J]. Marine Fisheries Research, 2007, 28(4): 83-88.

[25] 刘娥. 草幼鱼对氨氮胁迫的形态及生理学响应[D]. 济南: 山东大学, 2013: 3-4.
Liu E. Morphology and physiological response of juvenile grass carp to ammonia nitrogen stress[D]. Jinan: Shandong University, 2013: 3-4.

[26] Ruyet P L, Galland R, Roux A L, et al. Chronic ammonia toxicity in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. Aquaculture, 1997, 154(2): 155-171.

[27] Foss A, Imsland A K, Roth B, et al. Interactive effects of oxygen saturation and ammonia on growth and blood physiology in juvenile turbot[J]. Aquaculture, 2007, 271(1): 244-251.

[28] 黄冰, 郭华荣, 张士璀. 鱼类白化病的研究进展[J]. 海洋科学, 2003, 27(5): 11-14.
Huang Bing, Guo Huarong, Zhang Shicui. Advances on the studies of fish albinism[J]. Marine Sciences, 2003, 27(5): 11-14.

[29] 马爱军, 雷霁霖, 陈四清, 等. 鲆鲽类白化机理的研究进展[J]. 海洋水产研究, 2003, 24(3): 80-85.
Ma Aijun, Lei Jilin, Chen Siqing, et al. Progress of research on albinism mechanisms of flatfish[J]. Marine Fisheries Research, 2003, 24(3): 80-85.

[30] 关健, 郑永允, 刘洪军, 等. 大菱鲆子二代家系白化与正常幼鱼生长及形态学差异[J]. 中国水产科学, 2011, 18(6): 1286-1292.
Guan Jian, Zheng Yongyun, Liu Hongjun, et al. Growth and morphology of albino and normal F_2 juveniles from different families of turbot *Scophthalmus maximus*[J].

Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 18(6): 1286-1292.
[31] 郭恩棉, 吕亮, 王鑫, 等. 白化大菱鲆与正常大菱鲆营养价值的比较[J]. 莱阳农学院学报, 2006, 23(1): 34-36.
Guo Enmian, Lü Liang, Wang Xin, et al. The comparison of nutritive value between normally pigmented and albinistic turbot[J]. Journal of Laiyang Agricultural College (Natural Science), 2006, 23(1): 34-36.

Acute toxicity of ammonia nitrogen on turbot (*Scophthalmus maximus*)

LI Zhi-xiang[1, 2, 3], WANG Wei-ji[2, 3], HU Yu-long[2, 3], LÜ Ding[2, 3], WU Huan-huan[1, 2, 3], LUAN Sheng[2, 3], KONG Jie[1, 2, 3]

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shandong, Qingdao 266071, China; 3. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Shandong, Qingdao 266071, China)

Received: Apr. 10, 2017
Key words: *Scophthalmus maximus*; fry; ammonia; acute toxicity; LC_{50}; albino

Abstract: In this paper, we investigated the acute toxic effects of ammonia nitrogen on 4-month-old and 8-month-old turbot (*Scophthalmus maximus*), and compared the acute toxicity effects of ammonia nitrogen on albino and normal female and male turbot. The results showed that the median lethal concentrations (LC_{50}) at 24, 48, 72, and 96 h for un-ionized ammonia on 4-month-old turbot were 2.19, 1.94, 1.80, and 1.72 mg/L, respectively. The LC_{50} values at 24, 48, 72, and 96 h for un-ionized ammonia on 8-month-old turbot were 3.64, 3.02, 2.93, and 2.86 mg/L, respectively. The safe concentrations of non-ionic ammonia on 4-month-old and 8-month-old turbot were 0.17 mg/L and 0.29 mg/L, respectively. Although the 8-month-old turbot was more tolerant to ammonia nitrogen than the 4-month-old turbot, there was no significant difference in either the correlation between body weight and ammonia resistance or body length and ammonia resistance. A comparison of the ammonia nitrogen acute toxicity in albino and normal female and male turbot revealed no significant differences. The results obtained in this study provide scientific guidance for the circulation water farming of turbot and a theoretical basis for evaluating the genetic parameters of ammonia-resistant traits and further selection breeding of ammonia-nitrogen-resistant strains of turbot.

(本文编辑: 谭雪静)